



TITLE:

次世代シーケンサーを用いた日本人常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症におけるカリウムチャネル変異の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

多田, 有似

CITATION:

多田, 有似. 次世代シーケンサーを用いた日本人常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症におけるカリウムチャネル変異の解析. 京都大学, 2020, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22601>

RIGHT:

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	多田有似
論文題目	次世代シーケンサーを用いた日本人常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症におけるカリウムチャネル変異の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>脊髄小脳変性症（spinocerebellar ataxia: SCA）は、小脳性運動失調を伴う神経変性疾患で、希少難治性疾患である。日本では発症頻度が 10 万人に 5.3 人との統計が得られており、約 30% が遺伝性とされている。遺伝性 SCA の多くは常染色体優性遺伝性で、原因遺伝子座が特定されたものから病型に分類されており、現在までに多くの原因遺伝子が同定されている。最も頻度が高い遺伝子異常は CAG 繰り返し配列の異常伸長で、日本で頻度の高い <i>SCA3</i> や <i>SCA6</i> も CAG リピートの異常伸長である。一方、一塩基置換等の遺伝子変異が原因となる SCA も複数報告されている。原因遺伝子にはカルシウムチャネルやカリウムチャネルなどのイオンチャネル遺伝子も含まれている。これらのチャネルは神経細胞活動に重要な役割を果たしており、SCA の発症に重要な役割を担う。特に、カリウムチャネルは神経細胞の発火パターンの制御や静止膜電位の調節をしていて、神経細胞の正常な活動に必須である。しかし、カリウムチャネル遺伝子の変異による SCA の報告数は限られており、未だ同定されていない変異が多く存在すると考えられる。SCA の原因となる遺伝子変異を同定することは、病型やメカニズムを解明するために重要である。</p> <p>申請者は、原因遺伝子未知の 192 人の日本人常染色体優性遺伝性 SCA 患者について、次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスを実施し、2 種類の電位依存性カリウムチャネル遺伝子（<i>KCNC3</i>、<i>KCND3</i>）の変異を網羅的に解析した。これらの電位依存性カリウムチャネルは中枢神経系、特に小脳のプルキンエ細胞に多く発現している。Kv3.3 をコードする <i>KCNC3</i> は <i>SCA13</i> の原因遺伝子として、Kv4.3 をコードする <i>KCND3</i> は <i>SCA19</i>（<i>SCA22</i>）の原因遺伝子としてそれぞれ報告されている。しかし現在までに同定されている SCA の原因となる変異は <i>KCNC3</i> 遺伝子内に 6、<i>KCND3</i> 遺伝子内に 10 のみである。次世代シーケンサーによるターゲットシーケンスの結果、2 人の患者から <i>KCNC3</i> に c.1973G>A, p.R658Q と c.1018G>A, p.V340M の 2 つの変異がそれぞれ同定された。これらの変異は SCA の原因候補となる遺伝子変異として新規であった。一方で、<i>KCND3</i> には病因となる変異は特定されなかった。<i>SCA13</i> と <i>SCA19</i> は成人発症で進行が遅い小脳性運動障害が特徴である。これらの特徴は本研究の被験者の症状と類似している。また、軽度の深部感覚障害が 1 人の患者で見られた。</p> <p>SCA の原因となる既知の <i>KCNC3</i> に存在する変異の多くは Kv3.3 の電位センサーの膜貫通ドメインに存在する。一方で、申請者が同定した p.V340M 変異は細胞外ドメインに存在し、既知の変異部位と異なっていた。または既知の p.P583_585del 変異が存在する C 末端領域の細胞内ドメインに、p.R658Q 変異が位置した。これらの変異はタンパク質内での分布が大きく異なり、チャネル機能に与える影響にも差異があると考えられるが、これらすべての変異が <i>SCA13</i> と <i>SCA19</i> の原因となっているため、共通の神経細胞障害機構に収束していることが予想される。カリウムチャネル変異を原因とする SCA は非常に稀であり、さらなる症例の蓄積により、チャネル機能不全と SCA の関係が明らかになることが期待される。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

脊髄小脳変性症は小脳性の運動障害を伴う神経変性疾患である。遺伝性の病型が多く存在し、多くの原因遺伝子が報告されている。原因となる遺伝子変異の多くはポリグルタミンを始めとする繰り返し配列の異常伸長であるが、1塩基置換による病型も複数報告されている。臨床診断時には病型の特定を目的に遺伝子診断が実施される。しかし、遺伝子診断で解析される遺伝子は、変異頻度の高い遺伝子のみである場合がほとんどである。そのために、遺伝子診断によって原因遺伝子が特定されなかった脊髄小脳変性症患者も多く存在している。それらの患者は頻度の低い遺伝子変異が原因となっている場合が多い。その中にはこれまでに報告されていない遺伝子変異が存在すると申請者は考え、本研究では原因遺伝子未知の常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症患者を対象に、原因遺伝子として電位依存性カリウムチャネル遺伝子の新規遺伝子変異の同定を目的として研究が実施された。

申請者は、次世代シーケンサーを用いて原因遺伝子未知の常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症患者 192 検体の *SCA13* の原因遺伝子 *KCNC3* と *SCA19/SCA22* の原因遺伝子 *KCND3* のエクソン領域のターゲットシーケンシングを行った。検出された数多くのバリエーションをアレル頻度とタンパク質機能変化予測の観点から病因として妥当なバリエーションに絞り込み、最終的にサンガーシーケンシングで確認することで、*KCNC3* に脊髄小脳変性症の原因候補となる 2 つの新規変異を同定した。これら 2 つの変異が脊髄小脳変性症の原因となるメカニズムの考察として、申請者は脊髄小脳変性症の発症の原因となる既知の電位依存性カリウムチャネル遺伝子変異の知見との比較から、本研究で同定された新規変異がカリウムチャネルの活性化と不活性化に影響することによって、間接的に細胞内カルシウムイオン濃度を変化させるというモデルを提案した。そのモデルは、塩基変異によるアミノ酸変化がチャネルのカリウムイオン流出量を変化させ、それによる神経細胞の電位変化が電位依存性カルシウムチャネルの活性化時間に影響を与えることで、細胞内カルシウムイオン濃度が変化し、神経細胞毒性につながるというものである。

イオンチャネル遺伝子の 1 塩基置換変異による脊髄小脳変性症の発症メカニズムには解明の余地が未だに多く存在し、申請者が同定した遺伝子変異とその変異の症例は *SCA13* の病態解明に向けての新たな知見となった。今後は変異によるチャネル機能不全が原因となる神経細胞毒性の機序の詳細な解明が期待される。

以上のように、本論文は脊髄小脳変性症の原因候補となる遺伝子変異を同定し、その発症メカニズムを考察したもので、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されており、また、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和 2 年 2 月 12 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日